第25卷 第3期 昆 虫 学 报 Vol. 25, No. 3
1982年8月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Aug., 1982

七星瓢虫成虫脂肪体核酸代谢与生殖滞育的关系

关雪辰 陈娥英
(中国科学院动物研究所)

摘要 本文以微量萤光法测定七星瓢虫成虫繁殖期、滞育期脂肪体核酸、蛋白含量的变化，结果表明：繁殖期雌虫卵巢发育I和II级时 RNA/DNA 比值分别为2.47和4.50；卵巢发育至III级时 RNA/DNA 比值出现高峰为8.44，IV级时降为3.60，产卵后显著下降至1.76。所以脂肪体 RNA/DNA 比值可做为卵黄蛋白合成的一项指标。

成虫羽化后，以短光照(每日9小时光照，15小时黑暗)诱导成虫滞育，测定预滞育期 RNA/DNA比值及蛋白质含量分别为3.16及59微克/毫克脂肪体；进入滞育期则分别降为1.24和14微克/毫克脂肪体；滞育结束后 RNA/DNA 比值上升为7.04，蛋白含量为133微克/毫克脂肪体。

成虫繁殖期与滞育期不同阶段脂肪体核酸、蛋白量的差异反映卵黄蛋白合成水平。核酸蛋白质含量低可做为滞育出现的信号。而滞育结束后 RNA/DNA 及蛋白含量的增加，可做为滞育结束的一个生化指标。

近年来，利用七星瓢虫 (*Coccinella septempunctata* L.) 防治棉蚜取得成绩，因此，影响其数量消长的生殖滞育引起了人们的注意。七星瓢虫与马铃薯甲虫 (*Leptinotarsa decemlineata* Say) 等一样，其滞育的特点之一是雌虫的生殖腺停止发育。已知甲虫雌性生殖腺的发育是受激素控制的，保幼激素滴度的变化可产生或结束滞育，而激素的作用是使靶器官基因系统的一些潜在成分活化产生专一的 mRNA。mRNA 进入细胞质合成卵黄形成时所需的蛋白质。所以核酸和蛋白质的代谢规律在探讨滞育生理的研究中是很重要的。

在应用中人为地控制七星瓢虫的滞育首先需确定产生滞育的诱导因素，研究用哪些方法可使瓢虫结束滞育。为提高这些工作的可靠性，首先必须建立滞育发生或结束的标准。本文对 RNA 与 DNA 代谢水平进行研究以阐明滞育开始与结束时核酸代谢的特点。

材 料 与 方 法

5月从河南省田间采回七星瓢虫老熟幼虫和蛹，实验室内羽化后，分别放在短光照(每日9小时光照，15小时黑暗)及长光照(基本全日光照)下以蚜虫饲养。温度为30℃左右。解剖瓢虫时用少许生理盐水冲洗腹腔内的血淋巴，小心摄取一定量(0.5—2.0毫克)脂肪体，放入小玻璃匀浆管中称重、按1毫克脂肪体加100微升缓冲液的比例加入 PBS 液 ($CaCl_2$ 0.1克，KCl 0.2克，KH_2PO_4 0.2克，$MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.1克，NaCl 8.0克，Na_2HPO_4 1.15克。溶于1升水中，用 NaOH 溶液将 pH 调至7.5)在冰浴中匀浆1—2分钟，浓度为50微克脂肪体/5微升。用意大利 Optica 型萤光分光光度计进行测定(吴秋雁等，1981；Baer,

本文于1981年3月收到。
本文是在钦俊德教授指导下完成的，特此感谢。

1975)。

结 果

一、繁殖期与滞育期雌虫脂肪体核酸代谢特征

1. 繁殖期雌虫脂肪体核酸量的变化

将饲养在长光照繁殖期的雌虫按卵巢发育不同阶段逐头测定 RNA 及 DNA 含量,每阶段测 3—10 头(表 1)。

表 1 瓢虫(♀)脂肪体在不同卵巢发育阶段的核酸含量

卵巢发育期	DNA 毫微克(ng)/50微克脂肪体	RNA 毫微克(ng)/50微克脂肪体	RNA/DNA
原始期	18.07 ± 4.5*	44.56 ± 16.58*	2.47
分化期	22.49±11.01	101.12±29.54	4.50
生长期	10.09 ± 6.41	85.19±35.97	8.44
成熟期	21.55 ± 6.99	77.50±41.52	3.60
产卵期	29.10 ± 13.04	51.27±48.41	1.76

* 95%置信区界

刚羽化的成虫卵巢管无明显分化,定为 I 级阶段(原始期), RNA/DNA 比值为 2.47。卵巢管有明显卵室分化,但无卵黄沉积定为II级(分化期), RNA/DNA 比值为 4.5。卵巢管分出 2—3 个卵室并有卵黄沉积,但卵粒还未成熟,此时为 III 级(生长期), RNA/DNA 比值出现高峰为 8.44。卵巢管明显分化出 3 个卵室,卵粒成熟(有的已产卵),或即将成熟定为IV级(成熟期)。此时 RNA/DNA 比值下降为 3.60。七星瓢虫在繁殖期间卵巢管由 I 级发育至 III 级,卵黄合成逐渐增多。卵黄原蛋白合成前脂肪体细胞 RNA 迅速合成,加快脂肪体合成卵黄原蛋白的速率。而产卵后 RNA 合成速率下降, RNA/DNA 比值降为1.76。

2. 预滞育期、滞育期及滞育结束雌虫脂肪体核酸量的改变

成虫羽化后立即给短光照处理,30℃ 以下以蚜虫喂饲 2—3 周后 RNA/DNA 比值为 3.16。短光照 4—6 周后 RNA/DNA 比值降为 1.24。经 7—8 周短光照所测得 RNA/DNA 比值为 2.89。此时卵巢逐渐发育。短光照 9—10 周滞育结束, RNA/DNA 比值迅速上升为 7.04。卵巢管发育为生长期或成熟期(表 2)。

表 2 滞育期瓢虫(♀)脂肪体核酸含量

滞育期 (周)	DNA 毫微克/50微克脂肪体	RNA 毫微克/50微克脂肪体	RNA/DNA
2—3	14.42—7.77*	45.55 ± 21.83*	3.16
4—6	50.53±22.16	62.75 ± 24.73	1.24
7—8	20.7 ±6.47	59.86 ± 34.15	2.89
9—10	16.88±4.6	118.9 ± 27.3	7.04

* 95%置信区界

二、繁殖期与滞育期雌虫脂肪体内蛋白含量的变化

利用 Folin 酚法测定不同时间短光照处理的雌虫脂肪体内蛋白含量结果见表 3。

表 3 繁殖期与滞育期雌虫脂肪体内蛋白含量的比较

成虫发育	卵巢发育	短光照时间(周)	原蛋白含量微克/毫克脂肪体
预滞育期	分化期	2	59±15.83*
滞育期	原始期	5	14±7.17
繁殖期	成熟期	8	133±71.54

* 95%置信区界

三、不同光照下产卵情况的观察

将刚羽化的瓢虫分别置于长光照与短光照下以蚜虫喂饲。长光照组雌虫第 8 至 9 天开始产卵，而且在雌虫一生中卵不断形成并产出，直到死亡。短光照组雌虫直至 16 天后没有出现产卵个体，此时认为进入滞育阶段。经约 28 天的滞育期后出现了产卵个体，此时雌虫卵巢大部分发育至生长期或成熟期，表明滞育已结束。

讨　　论

Hodek (1979) 在昆虫产卵与生殖滞育调节机制的研究中提出：无论是开始产卵或停止产卵，调节中心在于脑，这一中心可抑制生殖滞育的延续。Hodek (1961) 等以瓢虫为材料，表明日照与温度这两个因素与滞育的产生有关。其中日照更为重要。短日照可诱导滞育的产生。我们的试验也观察到这种现象。

繁殖期瓢虫脂肪体细胞中 DNA 与 RNA 相对含量有明显的变化。原始期、分化期、生长期、成熟期各期间的差异反映出脂肪体本身重量的变化。瓢虫成虫发育初期脂肪体细胞体积小，DNA 相对含量较高，随着昆虫发育脂肪体愈加丰富。生长期脂肪体 DNA 的相对含量降至最低。卵成熟时脂肪体减少，其中 DNA 相对含量又有增加。产卵后 DNA 相对含量增至最高，此时脂肪体减到最低量。此外，繁殖期的各个不同发育阶段 RNA/DNA 比值有很大变化，反应出 RNA 合成量的差异，这直接关系到蛋白质合成的能力，卵成熟前脂肪体细胞大量合成 RNA。RNA/DNA 比值明显增加，促使卵黄原蛋白大量沉积。而产卵后，RNA 合成速率下降，RNA/DNA 比值也显著降低。所以 RNA 与 RNA/DNA 相对量的变化可看作蛋白合成的一项指标。

检查七星瓢虫是否在滞育中的一个方法是，在长日照（每天 16—18 小时）、温度约 30℃和有充足蚜虫作食料的条件下饲养 3 周，通过解剖观察卵巢发育或产卵情况来确定。但此法饲养时间较长，而且在此过程中原在滞育中的个体也可能结束滞育。本文以短光照诱导七星瓢虫产生滞育。测量滞育期不同阶段的脂肪体核酸、蛋白量的变化，试图以此为指标了解瓢虫是否处于滞育状态。结果表明短光照 2 周后的雌虫卵巢管大部分为原始期，部分发育为分化期，RNA/DNA 比值及蛋白质含量较高，可能是经短光照处理一段时间，瓢虫仍未进入滞育期而是处于预滞育期。短光照 4—6 周后部分个体卵巢管一直不发育而停止在初期阶段，部分个体卵巢管已发育到生长期。但由于经短光照处理，卵母细胞

退化，卵黄内含物质被吸收，滤胞中葫萝卜素类物质在卵巢管下端形成红点。此期的RNA/DNA 比值明显下降，且不同时间波动不大。蛋白质含量也明显下降。此时雌虫进入滞育期。短光照 7 周后成虫开始发育，RNA/DNA 比值增加。短光照 9—10 周时RNA 大量合成，与短光照 4—6 周相比有明显差异。脂肪体 RNA/DNA 比值及蛋白质含量迅速上升。卵巢管发育至成熟期部分雌虫陆续产卵，此时结束滞育期。在滞育的不同阶段核酸、蛋白量的差异反映了蛋白合成水平的高低。蛋白、核酸含量低可做为滞育出现的信号。而滞育结束后 RNA 活性增加，RNA/DNA 及蛋白质含量也迅速增加，可做为滞育结束的一个很好的生化指标。

Mitlin 等（1976）和 Dortland 等（1978）的工作证明棉铃象甲(*Anthonomus grandis*)及马铃薯甲虫脂肪体的生化变化与生殖滞育关系。Ring（1973）对丝光绿蝇（*Lucilia Sericata*）滞育期与正常发育期核酸、蛋白量的变化研究指出：滞育期幼虫 RNA/DNA（D. W. 表示干重)值在狭小的范围内轻微变动，RNA/DNA 值低并较稳定，表明这一阶段蛋白合成停止。经过滞育阶段后，RNA 活性再次增加，反映在 RNA/DNA 比值增加，显然这是滞育结束的可靠生化指标。

de Wilde 等（1959）在马铃薯甲虫脂肪体蛋白质合成与贮存研究中指出：雌虫羽化后经长光照 5 天开始产卵，短光照经 11—12 天进入滞育期。两种光照条件下饲养的甲虫脂肪体发育期间蛋白质合成差异很大。本项试验同样证明长光照和短光照下饲养的雌虫脂肪体蛋白合成有明显区别。

由于多方环境的影响及虫体生理状态的差异，七星瓢虫所表现出来的生殖滞育是相当复杂的。有人认为七星瓢虫滞育的遗传性是由多基因遗传规律所决定。因之其生殖滞育表现参差不齐。昆虫的滞育受激素调节，其机制尚待继续研究。

参 考 文 献

钦俊德 1978 谈谈七星瓢虫的滞育问题。昆虫知识 **15**(1)：28—30；**15**(2)：49—50。

吴秋雁等 1981 七星瓢虫脂肪体的核酸代谢。昆虫学报 **24**(2)：127—34。

Boer. G. J. 1975 A simplified microassay of DNA and RNA using ethidium bromide. *Anal Biochem* **65**: 225—31.

Hodek, I. 1979 Intermittent character of adult diapause in *Aelia Acuminata* (Heteroptera). *J. Insect physiol.* **25**(11): 867—71.

Hodek, I. and J. Cerkasov, 1961 Prevention and artificial induction of imaginal diapause in *Coccinella septempunctata* (Col. coccinellidae) *Ent. exp. appl.* **4**: 179—90.

J. F. Dortland and C. A. D. de. Kort 1978 Protein synthesis and storage in the fat kody of the Coloraolo potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata. Insect Biochem.* **8**: 93—8.

Mitlin: N. et al. 1976 A comparison of certain aspects of nitrogen metabolism in non-diapause and diapause boll weevils, *Anthonomus grandis. Insect Biochem.* **6**(2): 207—9.

Ring. R. A. 1973 Changes in dry weight, protein and nucleic acid contents during diapause and normal development of the blowfly, *Lucilia sericata. J. Insect physiol.* **19**(3): 481—94.

Wilde, J. de., C. S. Duintjer, and L. Mook, 1959 Physiology of diapause in the adult Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata Say*) photoperiod as a controlling factor. *J. Insect physiol.* **3**(2): 75—85.

THE RELATION BETWEEN NUCLEIC ACID METABOLISM IN THE FAT BODY AND REPRODUCTIVE DIAPAUSE IN *COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA* L.

GUAN XUE-CHEN & CHENG E-YING

(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

Variations of nucleic acid and protein contents in the fat body of adult *Coccinella septempunctata* L. during reproductive and diapause stages were studied with microfluorometry. The results are as follows: The RNA/DNA ratios were found to be 2.47 and 4.50 respectively when the ovary reached the developmental stages I and II, a peak of 8.44 appeared in the developmental stage III and then it declined to 3.59 in the developmental stage IV. After oviposition the ratio rapidly decreased to 1.76. Therefore the fat body RNA/DNA ratio can be used as an indication of yolk protein synthesis. The newly emerged adult beetle can be induced to enter reproductive diapause by treatment with short photoperiod (9 hr. light, 15 hr. darkness), the RNA/DNA ratio remains in 3.16 and protin content 59 μg/mg in the fat body at the start of diapause, and further dropped to lower levels of 1, 24 and 14 μg/mg respectively during diapause. After diapause the RNA/DNA ratio and the protein content arise to 7.0 and 133 μg/mg respectively. Therefore The variation of nucleic acid and protein contents can be used as indications of diapause, and an increase in RNA and protein contents and RNA/DNA ratio as shown in the text would mark the termination of diapause.